

2. Надточій С.М., Богуславський А.Ю., Сагач В.Ф. Вивчення стабільного фактору мітохондріального походження in vivo // Фізіол. журн.- 2003.- т.49, №5.- С.25-31.

3. Brookes P. S., Salinas E. P., Darley-USmar K. et al. Concentration-dependent effect of nitric oxide on mitochondrial permeability transition and cytochrome c release // J. Biol. Chem.-2000.-275.-27.-P. 20474-20479

4. Crompton M, Barksby E., Johnson N. and Capano M. Mitochondrial intermembrane junctional complexes and their involvement in cell death // Biochimie. - 2002. - 84. - P.143-152.

5. Marechal G., Gailly P. Effects of nitric oxide on the contraction of skeletal muscle // Cell. Mol. Life Sci.-1999.-55(8-9).-P. 1088-1102.

6. Moncada S., Erusalimski J. Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? // Natural Reviews. Mol. Cell. Biol.- 2002.- Vol.3 - P.214-220.

## **ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ ПЕЩЕРИСТЫХ ТЕЛ КРОЛЯ, ВЫЗВАННОЙ ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА**

**Бурый В.А., Гурковская А.В., Суханова К.Ю. Сагач В.Ф.**

*Институт физиологии им. А.А.Богомольца НАНУ, Украина*

Эрекция наступает при уменьшении тонуса корпоральных гладкомышечных клеток (ГМК) с последующим увеличением притока крови к пещеристым телам и наполнением их кровью. Основным фактором, приводящим к расслаблению ГМК, является окись азота, освобождающаяся как из нервных окончаний, так и с эндотелиальных клеток корпуса [1]. Помимо расслабляющего фактора, эндотелиальные клетки сосудов продуцируют и сокращающий фактор. На роль сокращающего фактора предлагался анион супероксида [2] или один из простаноидов [3]. Анион супероксида, перекись водорода ( $H_2O_2$ ) и радикал гидроксила являются наиболее важными реактивными формами кислорода (РФК). В организме супероксидный радикал метаболизируется до  $H_2O_2$ , а  $H_2O_2$  генерирует радикал гидроксила. Модифицируя различные белки, РФК способны изменять механизмы транспорта ионов и влиять на сосудистый тонус, в том числе и тонус ГМК пещеристых тел. В предыдущих исследованиях мы показали, что  $H_2O_2$  вызывает сложную реакцию, состоящую из кратковременного понижения и последующего повышения тонуса ГМК пещеристых тел [4]. Начальное расслабление зависело от эндотелия и, по-видимому, опосредовано активацией гуанилатциклазного сигнального пути на уров-

не NO синтазы. Сократительная реакция оказалась независимой от эндотелиальной NO-синтазы. Поскольку результатом сократительной реакции является прекращение эрекции, можно предполагать, что РФК могут иметь отношение к эректильной дисфункции. Поэтому целью работы было исследование механизмов сократительных реакций ГМК пещеристых тел, вызванных действием  $H_2O_2$ .

### *Материал и методы исследования*

Опыты проводили на продольных мышечных полосках пещеристых тел кролей весом 2-2,5 кг. Сократительную активность полосок длиной до 6 мм и шириной до 2 мм регистрировали с помощью тензOMETричного датчика в проточном растворе Кребса в режиме близком к изометрическому при температуре 36,5 °C.

Раствор Кребса имел следующий состав (ммоль/л): NaCl-120; KCl-5,9;  $NaHCO_3$ -15,5;  $NaH_2PO_4$ -1,2;  $MgCl_2$ -1,2;  $CaCl_2$ -2,5; глюкоза-11,5. Для опытов использовали: 1% раствор  $H_2O_2$  (УкрФарм, Украина),  $N^G$ nitro-L-arginin mehtyl ester (L-NAME), индометацин, тетраэтиламмоний (ТЭА) и 4-аминопиридин (4-АП) (Sigma).

### *Результаты исследований и их обсуждение*

На первом этапе исследовали возможную причастность продуктов метаболизма арахидоновой кислоты (АК) через циклооксигеназные пути к развитию сократительной реакции ГМК пещеристых тел под действием  $H_2O_2$ . С этой целью использовали индометацин, который является блокаторм циклооксигеназного пути метаболизма АК.

Исследования показали, что индометацин в концентрации 50 мкмоль/л полностью угнетает сократительную реакцию ГМК пещеристых тел, вызванную  $H_2O_2$ . При этом сокращение пещеристых тел, которое вызывалось действием гиперкалиевого раствора или норадреналина, оставалось неизменным. Эти результаты свидетельствуют, что эндотелий-независимое сокращение пещеристых тел кроля, вызванное  $H_2O_2$ , может опосредоваться простаноидами. Поскольку перекись водорода способна легко проникать через гидрофобные мембраны она может активировать в цитозоле гладкомышечной или эндотелиальной клетки фосфолипазу  $A_2$  [5], освобождая АК, которая является субстратом для циклооксигеназы. Способность перекиси водорода вызывать индометацин-чувствительное сокращение было ранее показано на пияльных артериолах [6].

Дальнейшие исследования были направлены на раскрытие механизмов, которые участвуют в сократительной реакции пещеристых тел при действии  $H_2O_2$ . Как и в других типах гладких мышц, сокра-

шение ГМК пещеристых тел тесно связано с активностью ионных каналов мембраны. Известно, что РФК, в зависимости от типа сосудов, могут увеличивать или уменьшать активность калиевых ( $K^+$ ) каналов мембраны ГМК.  $K^+$  каналы участвуют в формировании потенциала покоя ГМК, от которого зависит степень активации потенциал-управляемых  $Ca^{2+}$  каналов, а следовательно,  $Ca^{2+}$ -зависимая активация сократительного механизма. Поэтому было проведено исследование возможной причастности потенциал- и  $Ca^{2+}$ -зависимых  $K^+$  каналов к механизмам сократительной реакции пещеристых тел, вызываемой  $H_2O_2$ .

ТЭА, который в малых концентрациях преимущественно угнетает  $Ca^{2+}$ -зависимые  $K^+$  каналы, в концентрации 1 ммоль/л вызывал сократительную реакцию пещеристых тел. Аппликация  $H_2O_2$  на фоне действия ТЭА, либо ТЭА на фоне действия  $H_2O_2$  показала, что сократительные реакции на оба фактора суммируются независимо от порядка их аппликации. Это свидетельствует о непричастности  $Ca^{2+}$ -зависимых  $K^+$  каналов к сократительной реакции на  $H_2O_2$ . С другой стороны, сокращение пещеристых тел при угнетении  $Ca^{2+}$ -зависимых  $K^+$  каналов указывает на участие этих каналов в формировании исходного тонуса пещеристых тел.

4-АП, который является блокатором потенциал-зависимых  $K^+$  каналов, в концентрации 5 ммоль/л вызывал сократительную реакцию пещеристых тел, подобную той, что вызывалась ТЭА. Таким образом, потенциал-зависимые  $K^+$  каналы, так же, как и  $Ca^{2+}$ -зависимые принимают участие в формировании исходного тонуса пещеристых тел. На фоне действия  $H_2O_2$  сократительная реакция на 4-АП значительно уменьшалась. Наиболее вероятное объяснение этого результата состоит в том, что популяция каналов, которые модулируются как  $H_2O_2$ , так и 4-АП является общей для обоих факторов.

Таким образом, полученные результаты исследований показали, что сократительная реакция гладких мышц пещеристых тел на  $H_2O_2$  может быть результатом угнетения 4-АП чувствительных потенциал-зависимых  $K^+$  каналов. Поскольку, как показано выше, сократительная реакция чувствительна к индометацину, можно аргументировать, что угнетение  $K^+$  каналов перекисью водорода опосредовано продуктами метаболизма арахидоновой кислоты через циклооксигеназный путь.

#### *Литература*

1. Barnett A.L. Nitric oxide in the penis: physiology and pathology. J. Urol. – 1997. – 157: p. 320-324.
2. Vanhoutte, P. M. and Z. S. Katusic. Endothelium-derived contracting factor: endothelin and/or superoxide anion? Trends Pharmacol.Sci. -1988- 9.7:p.229-30

3. Ito T, Kato T, Iwama Y, Muramatsu M, Shimizu K, Satake T. Prostaglandin H2 as an endothelium derived contracting factor and its interaction with endothelium derived nitric oxide. *J Hyperten* -1991- 9: p.729-36

4. Гурковська А.В., Суханова К.Ю., Бурій В.О., Сагач В.Ф. Роль ендотелію в реакціях печеристих тіл, які викликані перекисом водню. *Фізіологічний журнал*. - 2004- 50: 6, с.27-31,

5. Rao, G. N., M. S. Runge, and R. W. Alexander. Hydrogen peroxide activation of cytosolic phospholipase A2 in vascular smooth muscle cells. *Biochim.Biophys.Acta* - 1995-1265.1: p.67-72

6. Leffler, C. W., Busija,D.W., Armstead,W.M., Mirro,R. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> effects on cerebral prostanoids and pial arteriolar diameter in piglets. *Am J Physiol* -1990-258.5 Pt 2: H1382-H1387

## **КИСЛОРОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КРОВИ КРЫС ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ И В УСЛОВИЯХ ЕГО КОРРЕКЦИИ**

**Глебов А.Н.**

***УО «Гродненский государственный медицинский университет»,  
Беларусь***

Окислительный стресс рассматривают как один из важных механизмов развития дисфункции эндотелия. Среди различных факторов антиоксидантной системы в последнее время отмечается интерес к биологически активным полифенолам растительного происхождения из семейства флавоноидов, и прежде всего к кверцетину. Проявление свойств антиоксиданта у этого флавоноида основано на механизме искусственной ловушки свободных радикалов, что предполагает использование его как возможного перспективного фармакологического средства для борьбы с окислительным стрессом на клеточно-тканевом уровне [Будагова К.Р. и др., 2003]. Кверцетин рассматривается как один из регуляторов экспрессии белков теплового шока [Nosokawa N. et al., 1992]. Индукция данных белков в стрессированных клетках является важным адаптивным механизмом, обеспечивающим минимизирование опасных последствий различных «протеотоксических» воздействий. В то же время, белки теплового шока в реализации своего действия тесно интегрируются с L-аргинин-NO системой, участвующей в развитии окислительного повреждения [Малышев И.Ю., Малышева Е.В., 1998].

В данной работе представлены результаты наших исследований NO-зависимых механизмов формирования кислородсвязывающих свойств крови при окислительном стрессе, индуцированном липопо-